

POTENSI FILTRAT *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* ATCC 4796 SEBAGAI BIOPRESERVATIF PADA REBUSAN DAGING IKAN TONGKOL

RIENY SULISTIOWATI S.

Universitas Sam Ratulangi

email korespondensi: rinyulistijowati@gmail.com

Abstrak

Telah dilakukan penelitian dengan tujuan untuk menentukan pengaruh umur kultur dan rentang waktu perendaman dengan filtrat kultur *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796 dalam medium MRS terhadap jumlah bakteri kontaminan dan Coliform pada rebusan daging ikan tongkol setelah dicabuti tulang dan duri dalam air sumur. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental di Laboratorium Pangan - Pusat Penelitian Kimia LIPI Bandung dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan tiga kali ulangan. Umur kultur *L. acidophilus* ATCC 4796 yang digunakan adalah 0, 10, 14, dan 18 jam dengan rentang waktu perendaman 0, 30, 60 dan 90 menit. Parameter yang diamati adalah jumlah bakteri kontaminan dan Coliform pada rebusan daging ikan tongkol dengan metoda TPC (*Total Plate Count*) dan MPN (*Most Probable Number*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dengan variasi umur kultur 18 jam dan rentang waktu perendaman 90 menit mampu menghambat jumlah bakteri kontaminan hingga log 1.23 CFU/g. Penghambatan dengan perlakuan tersebut adalah 1 log siklus sel bakteri kontaminan. Filtrat umur kultur 10 jam waktu perendaman 90 menit; umur kultur 14 dan 18 jam dan waktu perendaman 30, 60 dan 90 menit mampu menghambat bakteri Coliform grup. Filtrat kultur umur 18 jam, perendaman 90 menit nilai Coliform MPN 0 dengan kontrol yaitu MPN 2.63 atau penghambatan 2 log siklus bakteri Coliform grup.

Kata kunci: *Biopreservatif*, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796, ikan tongkol, bakteri kontaminan, Coliform

Abstract

This research was conducted to determine the influence of culture age and soaking time range in the culture filtrate of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796 in MRS medium to total bacteria contamination and coliform in swordfish stew that plucked a thorn with water. Experimental research is performed at the Laboratory of Food - Chemical Research Center of LIPI Bandung using completely randomized design with three replications. *L. acidophilus* ATCC 4796 culture age used is 10, 14, and 18 hours with a range of soaking time 30, 60 and 90 minutes. The parameters used were total bacteria contaminants and coliform in swordfish stew with method TPC (*Total Plate Count*) and MPN (*Most Probable Number*). Results showed that treatment with a variety of culture 18 hours (pH 4.10) and the range of 90 minutes immersion time can inhibitory up to log 1.23 CFU/g the number of contaminants was 1 log cycle. The culture of *L. acidophilus* ATCC 4796 as well as 10 hours of immersion time 90 minutes; culture 14 and 18 hours of immersion time 30, 60 and 90 minutes can inhibitory the number Coliform bacterial, the culture 18 hours of immersion time 90 minutes inhibitory up to MPN 0 with control MPN 2.63 or 2 log cycle.

Keywords: *Biopreservatif*, *L. acidophilus* ATCC 4796, swordfish, contaminant bacteria, Coliform

Pendahuluan

Upaya mencegah terjadinya pembusukkan oleh mikroorganisme pada bahan pangan umumnya masih menggunakan pengawet kimia. Maraknya penggunaan pengawet kimia, dapat membahayakan kesehatan konsumen. Penggunaan biopreservatif asal Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan salah satu alternatif yang aman dan baik dalam proses pengawetan (Ray, 2004 dan Usmiati, S. 2009).

Lactobacillus acidophilus adalah salah satu BAL yang tahan terhadap suhu yang tinggi (termofilik fakultatif 60-80°C) serta tahan asam pH 4-4,6 dan basa pH 7 merupakan flora normal dalam saluran cerna yang sangat penting dalam memberikan pertahanan saluran cerna dengan cara menghambat kolonisasi mikroba patogen (Subijanto and Rahuh, 2005). *L. acidophilus* memiliki kriteria sebagai probiotik, ini didasarkan pada resistensi isolat terhadap kondisi asam dan berbagai antibiotik, serta kecepatan pertumbuhan, produksi asam dan kemampuannya menekan pertumbuhan bakteri patogen enterik (Purwadhani, dkk. 2007).

Kelompok ikan tongkol merupakan objek komersial untuk diekspor sebagai ikan kayu yang dikenal sebagai arabushi. Pada pengolahan ikan tongkol menjadi arabushi, ikan direbus kemudian ditiriskan, lalu direndam di dalam air dan dicabuti durinya. Pada saat inilah daging ikan sangat rentan terhadap kontaminan (BSN, 2009a). Daging ikan merupakan media yang

cocok untuk pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri ini didukung oleh kandungan protein dan air yang tinggi serta pH daging ikan yang mendekati netral (Adawyah, 2007). Pengendalian keamanan produk perikanan berdasarkan konsep *Hazard Analysis Critical Control Point* (HACCP) merupakan persyaratan FAO maupun internasional. Konsep tersebut didasarkan pada pengendalian titik kritis pada setiap tahap produksi. Pada tahap proses pengolahan arabushi terdapat titik kritis yaitu pada tahap pencabutan tulang dan duri yang direndam dalam air mentah, hal ini rentan terkontaminasi oleh kontaminan, sehingga kurang higienis. Untuk mencegah kontaminasi maka diperlukan suatu teknik pengolahan dan pengawetan yang tepat dan aman (Ray, 2004 dan Usmiati, 2009). Filtrat kultur *L. acidophilus* mengandung senyawa antimikroba yang dapat menghambat/mematikan bakteri kontaminan (Karaoglu et al, 2002., Kusmiati dan Malik, 2002). Umur kultur yang tepat penting diketahui untuk mendapatkan filtrat yang efektif, di samping itu juga perlu diketahui rentang waktu perendaman yang tepat agar efektifitas dalam penghambatan bakteri kontaminan tercapai.

Beberapa hasil penelitian yang mendukung pelaksanaan penelitian ini diantaranya: Hasil penelitian Amin dan Leksono (2001), penurunan pertumbuhan mikroba pada ikan jambal siam (*Pangasius sutchi*) asap

yang telah diawetkan secara ensiling ; Ibrahim dan Salha (2009), bahwa *metabolit L. acidophilus* efektif menghambat pertumbuhan *S aureus*, *E. coli* dan *Yeast* sehingga meningkatkan kualitas ikan tilapia (*Oreochromis niloticus*); Santoso, (2009) memanfaatkan bakteriosin produksi *L. plantarum* Ed 22 sebagai pengawet pada produk perikanan seperti peda ikan laying dan terasi udang dapat menurunkan bakteri kontaminan selama penyimpanan.

Tujuan penelitian adalah menentukan umur kultur *L.acidophilus* ATCC 4796 dan waktu perendaman terhadap jumlah bakteri kontaminan dan *Coliform group* pada rebusan daging ikan tongkol (*A. rochei*).

Metode

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, volum pipet (Eppendorf), erlenmeyer, ose, inkubator (Mettler), autoklaf (HL 36 Ae), spektrofotometer (U-2800 Hitachi), pH-meter (Cyberscan 510 pc), sentrifugator (Eppendorf 5804 A), oven (Mettler), tabung sentrifugasi, pengocok tabung reaksi, timbangan analitik (AA 200), membran millipore ukuran 0,45 mikrometer, kotak UV, plastik, gunting, pinset, tabung durham, *coolbox*, kapas, plastik, *laminar flow* (Labconco), loyang persegi.

Penelitian ini menggunakan objek penelitian diantaranya ikan tongkol yang diperoleh dari Pasar Caringin di Bandung, *Lactobacillus acidophilus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi ITB, *deMan Rogosa Sharp* (MRS) Oxoid CM 359, *Nutrien Agar* (NA) Oxoid CM 3B, NaCl fisiologis, akuades, *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) Oxoid CM 31B, *Lactose Broth* (LB) Oxoid CM 317B, alkohol 70%.

Pembuatan Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* (Cappucino and Sherman, 2005).

Kultur murni *L. acidophilus* diaktivasi sebanyak 3 kali. Aktivasi pertama dengan diinokulasikan 1 ose biakan murni *L. acidophilus* ke dalam 10 mL *MRS broth* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivasi kedua dengan diinokulasikan 1 mL kultur aktivasi pertama ke dalam 9 mL *MRS broth* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivasi ketiga dengan diinokulasikan 5 mL kultur aktivasi kedua ke dalam 45 mL *MRS broth* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Hasil kultur aktivasi ketiga diambil sebanyak 15 mL dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer yang berisi 135 mL medium *MRS broth* steril, lalu siap dilakukan pengukuran pertumbuhan bakteri dengan selang waktu tiap 2 jam. Pertama sebagai $t=0$ kemudian berurutan $t = 2$, $t = 4$ dan seterusnya sampai $t = 24$. Pengukuran pertumbuhan bakteri dilakukan 2 metode yaitu pengukuran secara tak langsung atau OD ("*Optical Density*") dan pengukuran secara langsung atau DC ("*Direct Count*"). Pengukuran OD dilakukan dengan melihat kerapatan bakteri dengan menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm, sedangkan pengukuran secara DC dilakukan dengan plating secara duplo dalam medium *MRS Agar*. Penghitungan koloni dilakukan dengan membuat seri pengenceran dalam NaCl fisiologis. Satu mL sampel dicuplik ke dalam deretan pengenceran 10-1 – 10-9

yang masing-masing berisi 9 mL NaCl fisiologis. Kemudian dilakukan plating, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam. Data dimasukkan ke dalam kurva pertumbuhan. Sumbu X merupakan nilai OD dan jumlah sel bakteri, dan sumbu Y menunjukkan waktu inkubasi.

Ikan tongkol dan kondisi ikan

Ikan tongkol segar disiangi, dibuang insang dan isi perutnya, kemudian dicuci dengan air mengalir kemudian direbus selama 30 menit pada suhu 80°C. Selanjutnya ikan ditiriskan sampai dingin dan dimasukkan di dalam wadah berisi air sumur sambil dicabuti durinya dengan menggunakan pinset, kemudian ditiriskan selama 30 menit di tempat kering dan pada suhu ruangan.

Filtrat *L.acidophilus* (Deegan et al., 2005; Ogunbanwo et al, 2003)

Lactobacillus acidophilus yang diperoleh dari Laboratorium ITB, dikultur dalam media *deMan Rogosa Sharp* (MRS) Oxoid CM 359 pada temperatur 37°C selama 10 jam, 14 jam dan 18 jam. Kultur disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 15 menit pada suhu 40°C, kemudian disaring dengan membran millipore ukuran 0,45 mikrometer. Filtrat diukur pH nya menggunakan pH meter, kemudian filtrat dipapar di bawah sinar UV selama 40 menit.

Perendaman ikan dengan filtrat (Amin dan Leksono, 2001).

Daging ikan tongkol dimasukkan ke dalam loyang persegi panjang yang berisi 200 ml *filtrat kultur L. acidophilus* ATCC 4796 dengan empat taraf umur kultur (kontrol 0, 10, 14, dan 18 jam) yang masing-masing diukur pH nya. Daging ikan tersebut direndam selama 0, 30, 60, 90 menit. Daging ikan yang telah diberi perlakuan ditiriskan di tempat kering dan pada suhu ruangan selama 30 menit.

Perhitungan jumlah bakteri kontaminan (BSNb,2009)

Jumlah sel bakteri kontaminan dihitung dengan cara mengambil 25 g sampel daging ikan dimasukkan ke dalam 250 ml NaCl fisiologis 0,9% (100) kemudian diencerkan dengan NaCl fisiologis 0,9% dan dihitung jumlah bakterinya dengan metode *Total Plate Count* (TPC) pada cawan petri dengan medium *Nutrien Agar* (NA) Oxoid CM 3B dan diinkubasi selama 24- 48 jam pada suhu 37°C.

Perhitungan jumlah *Coliform grup* (BSNb,2009)

Jumlah *Coliform Grup* dihitung dengan cara mengambil 25 g sampel daging ikan dimasukkan ke dalam 250 ml NaCl fisiologis 0,9% (100) kemudian diencerkan dengan NaCl fisiologis 0,9% dan dilakukan uji MPN (*Most Probable Number*). Uji penduga dilakukan pengenceran sampel, tiga pengenceran terakhir pada sampel masing- masing dimasukkan sebanyak 1 ml ke dalam 3 buah tabung reaksi yang berisi 9 ml *medium Lactosa B broth* (LB) Oxoid CM 317B yang telah berisi tabung durham. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam dan diamati pembentukan gas yang terjadi. Setiap tabung pada uji

penduga yang positif (terdapat pembentukan gas) dilakukan uji lanjutan dengan dipindahkan 1 ose masing-masing ke dalam tabung yang berisi 2 ml *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) *Oxoid CM 31B* yang telah berisi tabung Durham. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Hasil uji lanjutan yang positif ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung Durham, sedangkan untuk mengetahui hasil perhitungan akhir dibaca dengan memakai tabel MPN (BSNb, 2009).

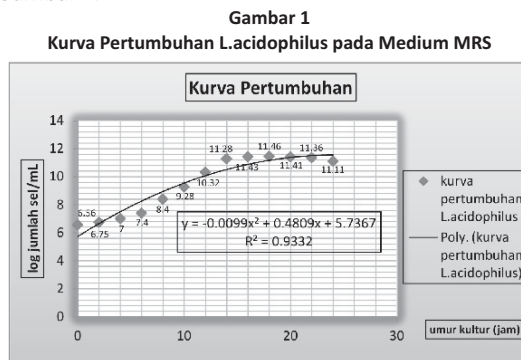
Rancangan penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap pola faktorial 4 x 4 yang faktor-faktornya, yaitu faktor pertama terdiri dari empat taraf umur kultur (0, 10, 14, dan 18 jam) yang masing-masing diamati pH-nya, faktor kedua terdiri dari empat taraf rentang waktu perendaman (0 sebagai kontrol, 30, 60, 90 menit) yang keseluruhannya diulang 3 kali. Parameter yang diamati adalah jumlah bakteri kontaminan yang terdapat pada daging ikan tongkol rebus. Selanjutnya dilakukan metoda MPN (*Most Probable Number*) untuk mengetahui jumlah bakteri golongan *Coliform*. Data diolah dengan ANAVA (Analisis Varians) dan apabila hasilnya berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji jarak ganda Duncan.

Hasil dan Pembahasan

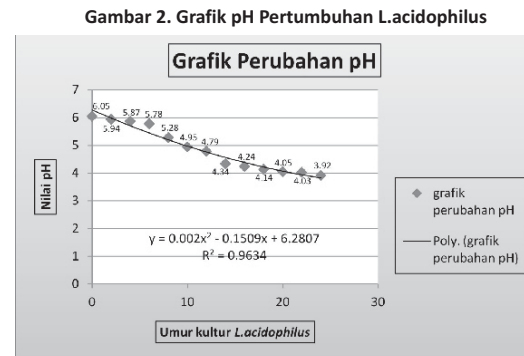
Kurva Pertumbuhan *L.acidophilus* ATCC 4796

Kurva pertumbuhan *L.acidophilus* disajikan pada Gambar 1.



Berdasarkan Gambar 1 terlihat bahwa *L.acidophilus* ATCC 4796 mengalami fase adaptasi (lag) pada jam ke-0 hingga jam ke-2, fase ini menggambarkan tidak ada pertumbuhan populasi secara signifikan karena sel mengalami perubahan komposisi kimiawi dan bertambah ukuran serta substansi intraseluler sehingga siap untuk membelah diri. Pada jam ke-2 hingga ke-16 *L.acidophilus* ATCC 4796 mengalami fase berikutnya yakni fase eksponensial atau logaritmik (log), fase ini menggambarkan sel membelah diri dengan laju yang konstan, massa menjadi dua kali lipat dengan laju sama, aktivitas metabolisme konstan, serta keadaan pertumbuhan seimbang. Pada jam ke-16 hingga jam ke-20 *L.acidophilus* ATCC 4796 mengalami fase berikutnya yakni fase stasioner atau tetap, fase ini menggambarkan terjadinya penumpukan metabolit hasil aktifitas metabolisme sel dan kandungan nutrisi

mulai habis, akibatnya terjadi kompetisi nutrisi sehingga beberapa sel mati dan lainnya tetap tumbuh sehingga jumlah sel menjadi relatif konstan. Pada jam ke-20 sel mulai mengalami fase kematian, fase ini menggambarkan sel yang mati menjadi lebih cepat daripada terbentuknya sel-sel baru, laju percepatan kematian tinggi. Grafik perubahan pH kultur *L.acidophilus* ditampilkan pada Gambar 2.

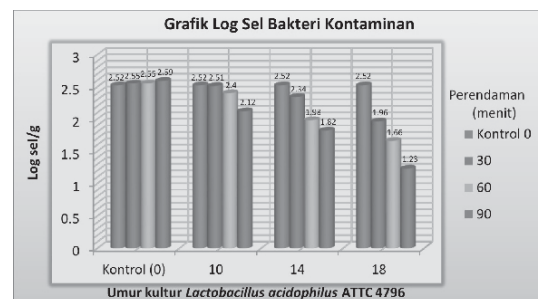


Berdasarkan data perubahan pH pada pertumbuhan *L.acidophilus* ATCC 4796 maka kurva dengan persamaan $Y = 0,002X^2 - 0,150X + 6,280$ dengan sumbu X yang menunjukkan umur kultur dan sumbu Y menunjukkan nilai pH. Pada pertumbuhan *L.acidophilus* ATCC 4796 umur kultur berbanding terbalik dengan pH, dengan bertambahnya umur kultur maka pH semakin menurun. Hal ini dikarenakan *L.acidophilus* ATCC 4796 merupakan bakteri asam laktat homofermentatif yang menghasilkan asam laktat sebagai metabolit primer.

Pengaruh Berbagai Umur Kultur dan Rentang Waktu Perendaman Dengan Filtrat *L.acidophilus* ATCC 4796 Terhadap Jumlah Total Bakteri Kontaminan pada Rebusan Daging Ikan Tongkol.

Pengaruh umur kultur dan rentang waktu perendaman dengan filtrat kultur *L.acidophilus* ATCC 4796 terhadap jumlah bakteri kontaminan pada rebusan daging ikan tongkol dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 3. Pengaruh Umur Kultur dan Rentang Waktu Perendaman dengan Filtrat *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796 terhadap Jumlah Total Bakteri Kontaminan Pada Rebusan Daging Ikan Tongkol



Pada Gambar 3. dapat dilihat bahwa perendaman dengan filtrat kultur *L. acidophilus* ATCC 4796 umur (10, 14 dan 18 jam) dan rentang waktu perendaman

berbeda dalam menghambat jumlah bakteri kontaminan yang terdapat pada rebusan daging ikan tongkol. Filtrat kultur *L.acidophilus* ATCC 4796 umur 18 jam berpengaruh lebih besar dalam menghambat jumlah bakteri kontaminan dibandingkan dengan filtrat kultur umur 14 dan 10 jam. Filtrat kultur *L. acidophilus* ATCC 4796 umur 14 jam berpengaruh lebih besar menghambat jumlah bakteri kontaminan dibandingkan filtrat kultur umur 10 jam, sedangkan kontrol (tanpa filtrat) terjadi peningkatan jumlah bakteri kontaminan. Pengaruh berbagai umur kultur berkaitan dengan kandungan filtrat dan pH (umur kultur 10 jam menghasilkan filtrat dengan pH 4.95; umur kultur 14 jam menghasilkan filtrat dengan pH 4.34 dan umur kultur 18 jam menghasilkan filtrat dengan pH 4.14).

Rentang waktu perendaman rebusan daging ikan tongkol dalam filtrat juga berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri kontaminan. Pada setiap umur kultur 0, 10, 14 dan 18 jam, rentang waktu yang memberikan pengaruh penghambatan jumlah bakteri kontaminan adalah 30, 60 dan 90 menit, sedangkan kontrol (tanpa filtrat) jumlah bakteri kontaminan relatif tetap. Rentang waktu perendaman berkaitan dengan kemampuan filtrat dalam menghambat bakteri kontaminan, yakni perendaman selama 90 menit lebih baik dibandingkan 60 menit, dan 60 menit lebih baik dibandingkan 30 menit sedangkan kontrol (tanpa filtrat) tidak berpengaruh terhadap penghambatan jumlah bakteri kontaminan.

Hasil pengujian analisis varians menunjukkan bahwa interaksi umur kultur dan rentang waktu perendaman memberikan pengaruh sangat signifikan ($P<0.01$) terhadap jumlah bakteri kontaminan pada rebusan daging ikan tongkol. Berdasarkan hasil uji jarak berganda Duncan menunjukkan bahwa perlakuan berbagai umur kultur dan berbagai rentang waktu perendaman, berbeda dalam memberikan pengaruh terhadap jumlah bakteri kontaminan pada rebusan daging ikan tongkol. Filtrat umur kultur 18 jam dengan pH 4.14 dan waktu perendaman 90 menit menunjukkan pengaruh berbeda ($P<0.01$) terhadap jumlah bakteri kontaminan pada rebusan daging ikan tongkol sampai nilai log 1.23 CFU/g. Hal ini berarti terjadi penghambatan pertumbuhan jumlah bakteri kontaminan selama perendaman 90 menit yaitu kontrol (tanpa filtrat) nilai log 2.59 menjadi nilai log 1.23. Artinya terjadi penghambatan 1 log siklus bakteri kontaminan. Perlakuan ini membuktikan bahwa filtrat *L. acidophilus* ATCC 4796 dapat digunakan sebagai biopreservatif pada rebusan daging ikan tongkol.

Waktu perendaman berhubungan dengan rentang waktu yang diperlukan oleh berbagai umur kultur filtrat *L.acidophilus* untuk terjadi penetrasi kedalam rebusan daging ikan yaitu waktu untuk tercapainya kesetimbangan titik isoelektrik yang sama antara pH filtrat dan pH rebusan daging ikan tongkol sehingga filtrat mampu menghambat bakteri kontaminan, yaitu filtrat kultur *L.acidophilus* ATCC 4796 umur 10 jam pH

4.95; umur 14 jam pH 4.34 dan umur 18 jam pH 4.14. Umur kultur 18 jam, maka diperlukan waktu perendaman 90 menit untuk menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan.

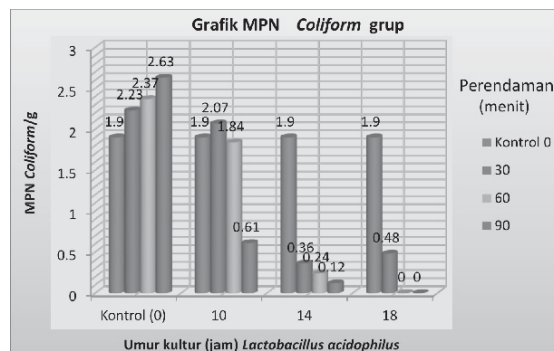
Semakin lama waktu inkubasi yaitu umur kultur pada fase eksponensial (18 jam), metabolit yang dihasilkan semakin meningkat seiring dengan menurunnya kandungan nutrisi yang tersedia untuk pertumbuhan *L.acidophilus* ATCC 4796. Selama pertumbuhan *L.acidophilus* ATCC 4796 menghasilkan asam laktat sebagai metabolit primernya, disertai dengan diekskresikannya pula H_2O_2 , diasetil, CO_2 , dan bakteriosin. Ayres, et al (1980), mengungkapkan bahwa BAL akan menghasilkan substansi bakterisidal yang mampu menurunkan jumlah bakteri secara drastis. Asam laktat yang dihasilkan *L.acidophilus* ATCC 4796 menurunkan pH filtrat serta menurunkan jumlah bakteri kontaminan pada rebusan daging ikan tongkol.

Rahardjo (2006) dan Yahya, dkk., (1997), mengindikasikan bahwa penghambatan pertumbuhan jumlah bakteri akibat pemberian asam organik seperti asam asetat dan asam laktat berkaitan dengan penurunan pH dalam sitoplasma dan adanya efek antimikroba dari residu asamnya. Asam laktat dapat mengawetkan bahan pangan dengan cara mengontrol pertumbuhan bakteri. Asam laktat bereaksi dengan membran sel sehingga menyebabkan meningkatnya permeabilitas dan hilangnya konstituen seluler, sehingga enzim-enzim yang esensial tidak aktif serta menghancurkan dan menonaktifkan fungsi material genetik. Menurut Supardi dan Sukanto (1999), penggunaan asam sebagai pengawet untuk menekan jumlah bakteri pada pH dibawah 4,5 memiliki peranan penting yang bersifat antimikrobia, penambahan asam akan menimbulkan sifat keracunan mikroba yang khas dari hasil uraiannya.

Pengaruh Berbagai Umur Kultur dan Rentang Waktu Perendaman Dengan Filtrat *L.acidophilus* ATCC 4796 terhadap Jumlah Coliform grup pada Rebusan Daging Ikan Tongkol.

Pengaruh umur kultur dan waktu perendaman dengan filtrat kultur *L. acidophilus* ATCC 4796 terhadap jumlah Coliform grup dapat dilihat pada Gambar 4.

Gambar 4. Pengaruh Berbagai Umur Kultur dan Rentang Waktu Perendaman dengan Filtrat *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796 terhadap Jumlah Coliform pada Rebusan Daging Ikan Tongkol



Pada Gambar 4 dapat dilihat bahwa perendaman dengan filtrat kultur *L.acidophilus* ATCC 4796 umur (10, 14 dan 18 jam) dan waktu perendaman (30, 60 dan 90 menit) mampu menghambat jumlah *Coliform* yang terdapat pada rebusan daging ikan tongkol. Filtrat kultur *L.acidophilus* ATCC 4796 umur (10, 14 dan 18 jam) memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghambat jumlah *Coliform* yang terdapat pada rebusan daging ikan tongkol. Filtrat kultur *L. acidophilus* ATCC 4796 umur 18 jam berpengaruh lebih besar menghambat jumlah *Coliform* dibandingkan dengan filtrat kultur umur 14 dan 10 jam. Filtrat kultur *L. acidophilus* ATCC 4796 umur 14 jam berpengaruh lebih besar menghambat jumlah *Coliform* dibandingkan dengan filtrat kultur umur 10 jam, sedangkan kontrol yaitu tanpa filtrat terjadi peningkatan jumlah bakteri *Coliform group*. Pengaruh berbagai umur kultur berkaitan dengan kandungan filtrat dan pH (umur kultur 10 jam menghasilkan filtrat dengan pH 4.95; umur kultur 14 jam menghasilkan filtrat dengan pH 4.34 dan umur kultur 18 jam menghasilkan filtrat dengan pH 4.14).

Rentang waktu perendaman rebusan daging ikan tongkol dalam filtrat juga berpengaruh terhadap penghambatan jumlah *Coliform*. Pada umur kultur 14 dan 18 jam, rentang waktu yang berpengaruh terhadap penghambatan jumlah *Coliform* adalah 30, 60 dan 90 menit. Umur kultur 10 jam, rentang waktu perendaman yang memberikan pengaruh penghambatan jumlah *Coliform* adalah 60 dan 90 menit, sedangkan kontrol tanpa filtrat kultur *L.acidophilus* ATCC 4796 pada setiap umur kultur tidak terjadi penghambatan jumlah *Coliform* atau relatif tetap. Rentang waktu perendaman berkaitan dengan kemampuan filtrat dalam menghambat pertumbuhan jumlah *Coliform*.

Berdasarkan hasil analisis varians menunjukkan bahwa interaksi umur kultur dan rentang waktu perendaman memberikan pengaruh sangat signifikan ($P < 0.01$) terhadap jumlah bakteri kontaminan pada rebusan daging ikan tongkol. Berdasarkan hasil uji jarak berganda Duncan menunjukkan perlakuan berbagai umur kultur dan berbagai rentang waktu perendaman, berbeda dalam memberikan pengaruh terhadap penghambatan jumlah bakteri *Coliform group* pada rebusan daging ikan tongkol. Umur kultur 10 jam (pH 4,95) perendaman 90 menit nilai MPN 0.61 serta perlakuan perendaman dengan filtrat umur kultur 14 jam (pH 4.34) (MPN 0.36, 0.24, 0.12) dan 18 jam (pH 4.14) (MPN 0.49 dan 0) waktu perendaman 30, 60 dan 90 menit memiliki pengaruh yang sama ($P < 0.01$) terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Coliform grup* pada rebusan daging ikan tongkol. Hal ini berarti terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri *Coliform grup* hasil perendaman selama 90 menit dengan filtrat umur kultur 18 jam yaitu kontrol perendaman tanpa filtrat *L.acidophilus* ATCC 4796 nilai

log 2.63 menjadi nilai log 0. Artinya terjadi penghambatan 2 log siklus bakteri *Coliform group*. Perlakuan ini membuktikan bahwa filtrat kultur *L. acidophilus* ATCC 4796 dapat digunakan sebagai biopreservatif pada rebusan daging ikan tongkol.

Umur kultur *L.acidophilus* ATCC 4796 selama fase pertumbuhan eksponensial menghasilkan asam laktat sebagai metabolit primernya. Produksi metabolit bakteri dipengaruhi oleh faktor-faktor antara lain tersedianya nutrisi sebagai sumber energi yaitu medium MRS, suhu pertumbuhan optimum 37°C serta suasana anerob fakultatif.

Waktu perendaman berhubungan dengan rentang waktu yang diperlukan oleh berbagai umur kultur filtrat *L.acidophilus* untuk terjadi penetrasi kedalam rebusan daging ikan yaitu waktu untuk tercapainya kesetimbangan titik isoelektrik yang sama antara pH filtrat dan pH rebusan daging ikan tongkol sehingga filtrat mampu menghambat bakteri *Coliform group*, yaitu filtrat kultur *L.acidophilus* ATCC 4796 umur 10 jam pH 4.95; umur 14 jam pH 4.34 dan umur 18 jam pH 4.14. Filtrat umur kultur 10 jam, maka diperlukan waktu perendaman (maksimal 90 menit) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Coliform grup*. Umur kultur minimal 14 jam atau maksimal 18 jam, maka diperlukan waktu perendaman minimal 30 menit atau maksimal 90 menit untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Coliform*. Filtrat *L.acidophilus* ATCC 4796 mampu memengaruhi jumlah *Coliform* pada rebusan daging ikan tongkol karena *L.acidophilus* ATCC 4796 menghasilkan asam laktat sebagai metabolit primernya, disertai dengan diekskresikannya pula H₂O₂, diasetil, CO₂, dan bakteriosin. Asam laktat yang dihasilkan *L.acidophilus* ATCC 4796 menurunkan pH filtrat serta menurunkan jumlah *Coliform group* pada rebusan daging ikan tongkol. *Coliform group* tergolong sensitif terhadap asam (pH optimum 6-7) sehingga dengan perlakuan asam akan memengaruhi jumlahnya. Mekanisme kerja terjadi karena asam laktat dalam bentuk tidak terdisosiasi dapat menembus membran sel. Selain itu, mampu menurunkan pH dan keadaan ini akan mengganggu aktivitas enzim sehingga sel tidak dapat melakukan aktivitas metabolisme. Hal ini sesuai dengan pernyataan Calcioglu, et al (2002) dalam Rosyidi, dkk (2005) bahwa perlakuan asam organik seperti asam asetat dan asam laktat dapat menurunkan jumlah *Coliform* dan patogen Gram negatif 1 sampai 3 log CFU/cm².

Selain asam laktat, *L.acidophilus* ATCC 4796 mengekskresikan senyawa yang mampu menghambat mikroorganisme lain seperti H₂O₂, diasetil, dan bakteriosin (Ray, 2004). Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dalam medium sintesis (MRS) mampu mempertahankan kesegaran daging. Bakteriosin yang merupakan metabolit sekunder dari BAL yang disintesa pada pertengahan fase logaritma

sampai fase stasioner mempunyai sifat bakterisidal (Santoso, 2009). *Lactobacillus* juga dapat menghasilkan H₂O₂ akibat adanya oksigen dan berfungsi sebagai antibakteri yang dapat menyebabkan adanya daya hambat terhadap pertumbuhan mikroorganisme lain (Ray, 2004). Selain itu hidrogen peroksida mampu membunuh bakteri pembentuk *spora anaerob* (Desrosier, 1988).

Simpulan

Filtrat umur kultur *L.acidophilus* ATCC 4796 18 jam serta waktu perendaman 90 menit mampu menghambat bakteri kontaminan sampai nilai log 1.23 CFU/g. Penghambatan dengan perlakuan tersebut adalah 1 log siklus sel bakteri kontaminan. Filtrat umur kultur 10 jam waktu perendaman 90 menit; umur kultur 14 dan 18 jam dan waktu perendaman 30, 60 dan 90 menit mampu menghambat bakteri *Coliform group*. Filtrat kultur umur 18 jam dengan kontrol yaitu kontrol tanpa filtrat nilai *Coliform* log 2.63, filtrat kultur 18 jam perendaman 90 menit nilai *Coliform* log 0. Artinya terjadi penghambatan 2 log siklus bakteri *Coliform* grup.

Daftar Pustaka

- Adawyah, R. 2007. *Pengolahan Dan Pengawetan Ikan*. Bumi Aksara. Jakarta. hal. 9, 13.
- Amin, W. dan T. Leksono. 2001. *Analisis Pertumbuhan Mikroba Ikan Jambal Siam (Pangasius sutchi) Asap Yang Telah Diawetkan Secara Ensiling*. Jurnal Nature Indonesia 4 (1). ISSN 1410-9379.
- Ayres, J.C., J.O. Mundt and W.E. Sandine. 1980. *Microbiology of Food*. W.H. Freeman and Company. San Francisco. p. 85-90.
- BSN. 2009a. *Ikan Kayu-Bagian 3: Penanganan dan Pengolahan*. SNI 2691.3-2009.
- BSN. 2009b. *Penentuan Coliform dan E.coli pada Produk Perikanan SNI 01-2332.1-2009*.
- Cappuccino, J.G and N. Sherman. 2005. *Microbiology : A Laboratory Manual. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.* Menlo Park. California. p. 13, 15, 93.
- Deegan, L.H., D.C. Paul., H. Colin and R. Paul. 2005. *Bacteriocins : Biological Tools for Biopreservatios and Shelf-life extension*. International dairy Journal
- Desrosier, N.W. 1988. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Terjemahan Muchiji Muljohardjo. Universitas Indonesia Press. hal. 75-80.
- Ibrahim, S.M and S.G. Desouky. 2009. *Effect of Antimicrobial Metabolites Produced by Lactic Acid Bacteria on Quality Aspect of Frozen Tilapia (Oreochromis niloticus) Filets*. World Journal of Fish and Marine Scienes. 1 (1) : 40-45. Melalui <http://www.idosi.org>. [Assessed September 27, 2010].
- Karaoglu, S.A., F. Aydin., S.S. Kilic., and A.O. Kilic. 2002. *Antimicrobial Activity and Characteristics of Bacteriocins Produced by Vaginal Lactobacilli*. Journal Medical Science Turk 33(2003) 7-13.
- Kusmiati dan A. Malik. 2002. *Aktifitas Bakteriosin dari Bakteri Leuconostoc mesenteroides Pabc1 Pada Berbagai Media*. Makara, Kesehatan. 6 (1) 1-7.
- Ogunbanwo, S. T., A. I. Sanni dan A. A. Onilude. 2003. *Characterization of bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum F1 and Lactobacillus brevis OGI*. African Journal of Biotechnology. 2(8):pp.219-227. Tersedia: <https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/1417/1/jb03045.pdf> [Assessed October 21, 2010].
- Purwadhani, S.N., M. Suladra., dan E.S. Rahayu. 2007. *Stabilitas Thermal Agensi Probiotik L. acidophilus SNP2 Terenkapsulasi Metode Ekstruksi dan Emulsi*. Seminar Nasional Teknologi 2007. ISSN:1978-9777. E-1–E-6.
- Rahardjo, S. 2006. *Teknik Dekontaminasi Cemar Bakteri Pada Karkas Kambing*. Jurnal Agritech Vol. 19(2) 47-54.
- Ray, B. 2004. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press, Boca Raton. New York. p. 61-70.
- Santoso, E. 2009. *Pemanfaatan Bakteriosin Produksi Lactobacillus plantarum Ed 22 Sebagai Pengawet Produk Perikanan*. Makalah Bidang Teknik Sumberdaya Alam Pertanian. ISSN 2081-7152. B55-B67.
- Subijanto, M.S and R. Rahuh. 2005. *Probiotic in Healthy and Sick Children*. Continuing Education Ilmu Kesehatan Anak XXV.1-17.
- Supardi, I dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi Dalam Pengolahan Dan Keamanan Pangan*. Penerbit Alumni. Bandung. 76-80.
- Usmiati, S. 2009. *Penggunaan Bakteriosin Untuk Mempertahankan Kesegaran*. Balai Besar Pascapanen Departemen Pertanian RI. <http://deptan.go.id/pascapanen>. Diakses 15 Juni 2010.
- Yahya., D. Wibowo., dan P. Darmadji. 1997. *Karakteristik Bakteri Asam Laktat dan Perubahan Kimia pada Fermentasi Bekasam Ikan Mujair*. BPPS-UGM, 10(1b). 1-14.